

УДК 577.57

**ММП-9 ЧУВСТВИТЕЛЬНЫЙ ГИДРОГЕЛЬ НА ОСНОВЕ ЖЕЛАТИНА-В,
ЗАГРУЖЕННЫЙ ПЕПТИДНЫМИ НАНОЧАСТИЦАМИ С МИРНК, ДЛЯ
УСКОРЕННОГО ЗАЖИВЛЕНИЯ ХРОНИЧЕСКИХ РАН**

Панюта А.С. (Университет ИТМО), **Ковалевич А.А.** (Университет ИТМО), **Дмитриева М.А.** (Университет ИТМО), **Егорова В.В.** (Университет ИТМО)

Научный руководитель – доктор химических наук, доцент Кривошапкина Е.Ф.
(Университет ИТМО)

Введение. Хронические раны характеризуются неспособностью заживать в течение ожидаемого периода времени и обычно поражают взрослое население, являясь результатом осложнений сахарного диабета, невропатии, а также венозной и артериальной недостаточности [1]. В прошлом данный тип ран был основной причиной ампутации конечностей, серьезных заболеваний и смерти человека из-за частых рецидивов, поэтому в настоящее время им уделяется особое внимание. С целью ускорения заживления хронических ран появилось множество гидрогелевых повязок, которые способны поддерживать влагу в раневом ложе, обладают противомикробными свойствами, но не решают одну из основных причин стойкого воспаления - гиперэкспрессию матриксных металлопротеиназ (ММП) [2-4]. Ранее было показано, что повышенный уровень ММП в раневом экссудате незаживающих ран коррелирует со снижением скорости их заживления [1, 3]. Более того, было обнаружено, что существуют две основные протеазы (ММП-8, ММП-9), которые по-разному влияют на заживление ран: избыточная экспрессия ММП-9 (желатиназа-В) замедляет процесс перехода между стадиями воспаления и пролиферации, а присутствие ММП-8 (нейтрофильная коллагеназа) способствует ему [4]. Таким образом, в данной работе представлена разработка ММП-9 чувствительного гидрогеля на основе желатина-В, который в присутствии данного белка способен к быстрой деградации и высвобождению пептидных наночастиц с малой интерферирующей РНК (миРНК) для подавления гиперэкспрессии ММП-9.

Основная часть. В проекте были разработаны и оптимизированы RGD-содержащие пептидные наночастицы с миРНК. Преимуществом использования RGD-последовательности в составе пептида является ее специфическое связывание с белком интегрином на поверхности мембраны клетки. Данный подход обеспечивает высокоэффективное проникновение комплекса с миРНК в клетку [5]. Результаты физико-химических методов анализа и испытаний *in vitro* показали, что оптимальным для дальнейшей инкапсуляции в гидрогели является N/P (азот/фосфор) соотношение пептида к миРНК, равное 16/1. Более того, были проведены дополнительные испытания *in vitro* клеточной линии рака молочной железы MDA-MB-231, экспрессирующей большое количество желатиназы-В под действием форбол 12-миристат 13-ацетата (ФМА) [6]. Так, было определено время – 24 часа, при котором экспрессия ММП-9 клетками максимальна после обработки ФМА. Исследования подавления гиперэкспрессии ММП-9 пептид/миРНК комплексами, измеренное с помощью ПЦР в реальном времени, показали значительный нокдаун гена ММП-9 (в 3 раза) по сравнению с необработанной контрольной группой.

Исследуемый гидрогель был приготовлен на основе желатина-В и диальдегидной гиалуроновой кислоты. Желатин-В был выбран в качестве основного компонента системы на основе полученных данных об успешной деградации белка под действием желатиназы-В. Гиалуроновая кислота является нетоксичным и биосовместимым материалом, активно применяемым в косметологии, а ее альдегидная форма – хорошим гелеобразующим агентом. В результате исследований свойств гидрогеля была построена золь-гель диаграмма и определено время полного гелирования образца с помощью реометра.

Выводы. Завершающим этапом исследований в ММП-9 чувствительный гидрогель на основе желатина-В были загружены пептид/миРНК комплексы с N/P соотношением 16/1. Была

исследована общая цитотоксичность материала, а также высвобождение наночастиц из геля в присутствии ММП-9, а также клеточной линии MDA-MB-231 после 24-часовой обработки ФМА. Данная работа свидетельствует о том, что разработанная гидрогелевая повязка может являться высокоэффективным и безопасным способом лечения диабетических хронических ран.

Список использованных источников:

1. Falanga V. et al. Chronic wounds // Nature Reviews Disease Primers. – 2022. – Т. 8. – №. 1. – С. 50.
2. Jones J. I. et al. Targeting MMP-9 in diabetic foot ulcers //Pharmaceuticals. – 2019. – Т. 12. – №. 2. – С. 79.
3. Dini V. et al. Potential correlation of wound bed score and biomarkers in chronic lower leg wounds: An exploratory study //Journal of wound care. – 2017. – Т. 26. – №. Sup9. – С. S9-S17.
4. Chang M., Nguyen T. T. Strategy for treatment of infected diabetic foot ulcers //Accounts of chemical research. – 2021. – Т. 54. – №. 5. – С. 1080-1093.
5. Lindemann W. R. et al. Conformational dynamics in extended RGD-containing peptides //Biomacromolecules. – 2020. – Т. 21. – №. 7. – С. 2786-2794.
6. Roomi M. W. et al. Patterns of MMP-2 and MMP-9 expression in human cancer cell lines //Oncology reports. – 2009. – Т. 21. – №. 5. – С. 1323-1333.